

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2004-035411
(43)Date of publication of application : 05.02.2004

(51)Int.CI. A61K 31/137
A01N 33/04
A01N 43/84
A61K 31/485
A61P 31/10

(21)Application number : 2002-190041 (71)Applicant : SATO PHARMACEUTICAL CO LTD
(22)Date of filing : 28.06.2002 (72)Inventor : ISHIZUKA SEIJI
TADA TOMOHIRO
KATAYAMA MASAHIKE
YANAGIHARA SATOSHI
SHIMIZU TOSHITO

(54) EXTERNAL ANTIFUNGAL AGENT

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain an antifungal agent or a therapeutic agent for athlete's foot having a high antimicrobial activity for both the genuses Trichophyton and Candida.

SOLUTION: The antifungal agent comprises amorolfine, butenafine or terbinafine. The formulation mass ratio of the amorolfine to the butenafine is (100:1) to (1:10).

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 12.04.2004

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-35411

(P2004-35411A)

(43) 公開日 平成16年2月5日(2004.2.5)

(51) Int.CI.⁷

A61K 31/137
A01N 33/04
A01N 43/84
A61K 31/485
A61P 31/10

F I

A61K 31/137
A01N 33/04
A01N 43/84 101
A61K 31/485
A61P 31/10

テーマコード(参考)

4C086
4C206
4H011

審査請求 未請求 請求項の数 8 O.L (全 16 頁)

(21) 出願番号
(22) 出願日特願2002-190041 (P2002-190041)
平成14年6月28日 (2002.6.28)

(71) 出願人 592142670
 佐藤製薬株式会社
 東京都港区元赤坂1丁目5番27号
 (74) 代理人 100059959
 弁理士 中村 稔
 (74) 代理人 100067013
 弁理士 大塚 文昭
 (74) 代理人 100082005
 弁理士 熊倉 穎男
 (74) 代理人 100065189
 弁理士 宍戸 嘉一
 (74) 代理人 100096194
 弁理士 竹内 英人
 (74) 代理人 100074228
 弁理士 今城 俊夫

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】外用抗真菌剤

(57) 【要約】

【課題】白 菌属及びカンジダ属の双方に高い抗菌力を有する、外用抗真菌剤又は水虫治療薬を提供する。

【解決手段】アモロルフィンと、アテナフィン又はテルビナフィンとを含有する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項1】

アモロルフィン及びブテナフィンを含有することを特徴とする外用抗真菌剤。

【請求項2】

前記アモロルフィン及びブテナフィンの配合質量比が、100：1～1：10である。

請求項1記載の外用抗真菌剤。

【請求項3】

アモロルフィン及びテルビナフィンを含有することを特徴とする外用抗真菌剤。

【請求項4】

前記アモロルフィン及びテルビナフィンの配合質量比が、100：1～1：10である。
10
請求項3記載の外用抗真菌剤。

【請求項5】

アモロルフィン及びブテナフィンを含有することを特徴とする水虫治療薬。

【請求項6】

前記アモロルフィン及びブテナフィンの配合質量比が、100：1～1：10である。
請求項5記載の水虫治療薬。

【請求項7】

アモロルフィン及びテルビナフィンを含有することを特徴とする水虫治療薬。

【請求項8】

前記アモロルフィン及びテルビナフィンとの配合質量比が、100：1～1：10である
20
、請求項7記載の水虫治療薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、皮膚真菌症に有効な抗真菌剤用組成物に関する。更に詳しくは白菌属及びカンジダ属に対する抗真菌作用が増強された水虫治療薬に関する。

【0002】

【従来の技術】

水虫の主要な原因菌は、白菌属及びカンジダ属の真菌である。水虫の多くは白菌属が原因であり、白菌が原因の水虫は、難治性である。従って、白菌による水虫の治療では、長期に薬を患部に塗布しなければならない。水虫の症状は、冬場に治まるが、これは水虫が完治したのではなく、菌の活動が緩和になっただけである。これに対して、カンジダ属が原因の水虫は、白菌による水虫に比べて数が少ない。また、カンジダ属による水虫は、白菌による水虫と比べて比較的治癒しやすい。

また、水虫治療の現場において、水虫症状の原因菌の判別が難しいという問題がある。即ち、水虫の原因菌が白菌属かカンジダ属かという区別は、専門医が顕微鏡でみると、菌を培養することによってのみ判別できるので、原因菌の判別までに手間と時間がかかる。従って、1) 水虫の最も主要な原因菌であり、かつ難治性である白菌属に対して、より一層増強された抗真菌作用を有すること、2) 原因菌がカンジダ属の水虫であっても、原因菌の判別をすることなく効果的な治療を行うことができるよう、カンジダ属に対して抗真菌作用を有すること、の2つの利点を兼ね備えた、水虫治療効果の高い抗真菌剤が望まれる。

【0003】

前記課題を解決すべく、従来から、白菌属及びカンジダ属の双方に抗真菌作用を有するアゾール系抗真菌剤と、種々の薬剤とを組み合わせて、抗真菌作用を増強した抗真菌剤が開発されてきた。アゾール系抗真菌剤と、他の薬剤とを組み合わせた抗真菌剤として、例えば、アリールメチルアミン系抗真菌剤と組み合わせた薬剤（特許掲載2581707号公報）、リソチームと組み合わせた薬剤（特開平9-20680号公報）、4級アンモニウム塩と組み合わせた薬剤（特開平9-110690号公報）、ラクトフェリン類の加水分解物又は

30

40

50

それ由来の抗菌性ペフチドとを組み合わせた薬剤（特開平9-165842号公報）、シクロピロクス・オラミン、トルナフタート等の一定の抗真菌剤及び殺菌剤と組み合わせた薬剤（特開平9-110693号公報）が開示されている。また、2つのアゾール系抗真菌剤を組み合わせた薬剤として、クロトリマゾール及びヒロールニトリンの組み合わせが開示されている（特開2000-186037号公報）。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、これらの薬剤は、いずれもアゾール系抗真菌剤を含有する。白菌属及びカンジダ属の双方に抗真菌作用を有する、アゾール以外の系、例えば、モルホリン系抗真菌剤と、他の薬剤を組み合わせた抗真菌剤については、報告されていない。10

また、現在の抗真菌剤開発の現場では、新規な薬剤の開発を中心となつてあり、従来の抗真菌剤の新たな組み合わせによる薬剤の開発はあまり行われていない。

更に、抗真菌作用を有する薬剤を組み合わせた抗真菌剤は、各々の薬剤の相加作用を示すことが多いが、抗作用を示す場合も少なくない。従って、新たな組み合わせの抗真菌剤が相乗作用を示すか否かは、予測できないのが現状である。相乗作用を示す抗真菌剤を得るには、様々な組み合わせの抗真菌剤について試験を逐一行い、その作用を確認しなければならない。従って、相乗作用を示す新たな薬剤の組み合わせを見つけることは、容易ではない。

本発明の目的は、特に白菌属に対して高い抗菌力を有し、かつカンジダ属にも抗菌力を有する、薬剤の新規な組み合わせの抗真菌剤、水虫治療薬を提供することにある。20

【0005】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、白菌属及びカンジダ属の双方に効力を有するモルホリン系抗真菌剤アモロルフィンの効力を更に増強すべく種々の抗真菌剤との併用効果を検討した結果、ペンジルアミン系抗真菌剤プロテナフィン又はアリルアミン系抗真菌剤テルビナフィンと組み合わせることによって、アモロルフィンの白菌属に対する抗真菌作用を顕著に増強させ、かつ、予想外にもカンジダ属に対する抗真菌作用をも顕著に増強させることを見いたした。アモロルフィンは、白菌属に対して非常に高い抗真菌作用を有し、カンジダ属に対しては、白菌属ほどではないが、抗真菌作用を有する。また、プロテナフィンは、白菌属に非常に高い抗真菌作用を有するが、カンジダ属に対しては有効ではないことは周知である。また、テルビナフィンは、白菌に対して非常に高い抗真菌作用を有し、カンジダ属に対しては、アモロルフィンよりも抗真菌作用が低く、従来カンジダ属に対する治療薬としては重要視されていなかつた。従って、アモロルフィンとプロテナフィン又はテルビナフィンとの組み合わせが、白菌属のみならず、カンジダ属にも相乗効果を示すことは予想外であった。30

本発明者らは、前記知見に基づいて本発明を完成し、本発明は、アモロルフィンと、プロテナフィン又はテルビナフィンとを含有する外用抗真菌剤、水虫治療薬に関するものである。

【0006】

【発明の実施の形態】

モルホリン系抗真菌剤のアモロルフィンは、本明細書において、その塩も含む概念であり、特に塩酸塩が好ましい。塩酸アモロルフィン（（土）-シス-2,6-ジメチル-4-[3-[4-（1,1-ジメチルアロヒル）フェニル]-2-メチルアロヒル]モルホリンモノハイドロクロライド、（C₂₁H₃₅NO·HCl）、分子量353.97）の構造式を以下に示す。

【0007】

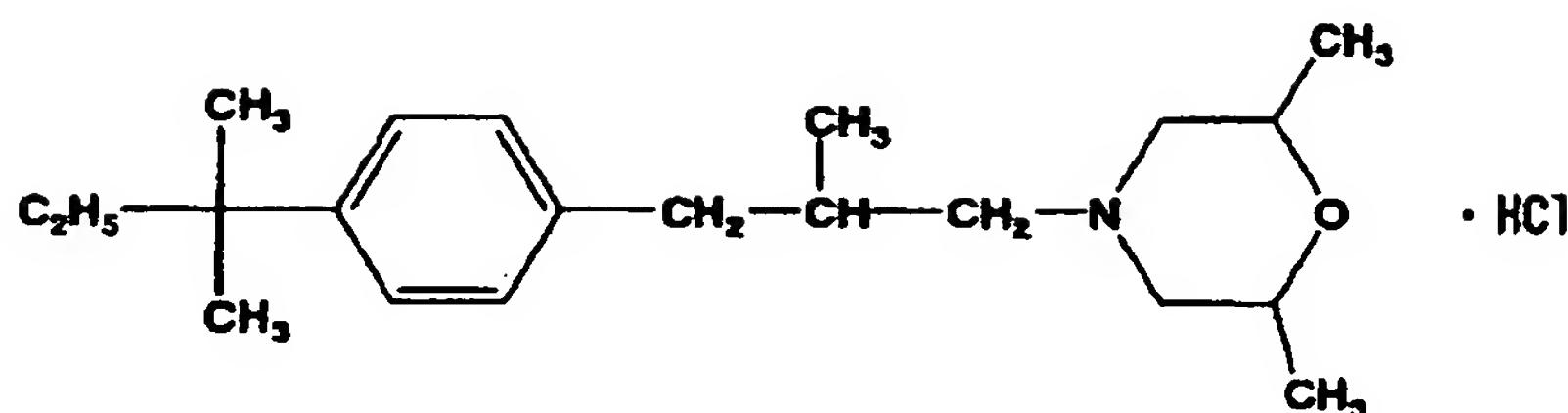
【化1】

10

20

30

40



【0008】

アモロルフィンは、白 菌属、カンジダ属をはじめ、小胞子菌属、表皮菌属、マラセチア属、黒色真菌等の諸菌種に対して幅広い抗菌力を発揮する。アモロルフィンは、世界的に使用されており、我が国でも現在医薬用として最も築用されている抗真菌剤であり、市場において容易に入手可能である。

塩酸アモロルフィンは、白 菌属のトリコフィトン・メンタクロフィテス (*Trichophyton mentagrophytes*) に対して、最小発育阻止濃度 (MIC) $\leq 0.0012 \sim 0.08 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、トリコフィトン・ルブルム (*Trichophyton rubrum*) に対して $\leq 0.0012 \sim 0.02 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、カンジダ・アルビカヌス (*Candida albicans*) に対して $0.01 \sim 1.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ を示す (表在性皮膚真菌症の患者から分離された真菌の臨床分離株に対する MIC、山口英世他、JAP. J. Antibiotics, 44 (9), 1007, 1018 (1991) を参照されたい)。

塩酸アモロルフィンの作用機序は、エルゴステロール生合成経路上の2つの段階を選択的に阻害することにより、細胞膜の構造、機能を障害し抗真菌活性が発現されると考えられる。

塩酸アモロルフィンの毒性等は、以下の通りである。LD₅₀ (mg/kg) マウス：経口 = 雄 2514 雌 2406、皮下 > 雄 雌 5000、静注 = 雄 141 雌 112、腹腔内 = 雄 205 雌 239、ラット：経口 = 雄 1960 雌 1756、皮下 > 雄 雌 2000、腹腔内 = 雄 468 雌 465、イヌ：経口 > 雄 雌 1000、皮下 > 雄 2500、生殖試験 (ラット、経口)：妊娠前～授乳期及び周産期・授乳期に 10 mg/kg/日以上投与で出生児の生存率への影響が認められた (薬業時報社発行、医療薬日本医薬品集 1997年 10月版 92頁より)。

本発明の抗真菌剤におけるアモロルフィンの有効配合量は、0.1～1質量%であり、好みしくは 0.1～0.5質量%、更に好みしくは 0.2～0.4質量%である。

【0009】

ベンジルアミン系抗真菌剤のアテナフィンは、本明細書において、その塩も含む概念であり、特に塩酸塩が好みしい。

塩酸アテナフィン (*N*-4-tert-セチルベンジル-N-メチル-1-ナフタレンメチルアミンハイドロクロライド (C₂₃H₂₇N · HCl)、分子量 353.93) の構造式を以下に示す。

【0010】

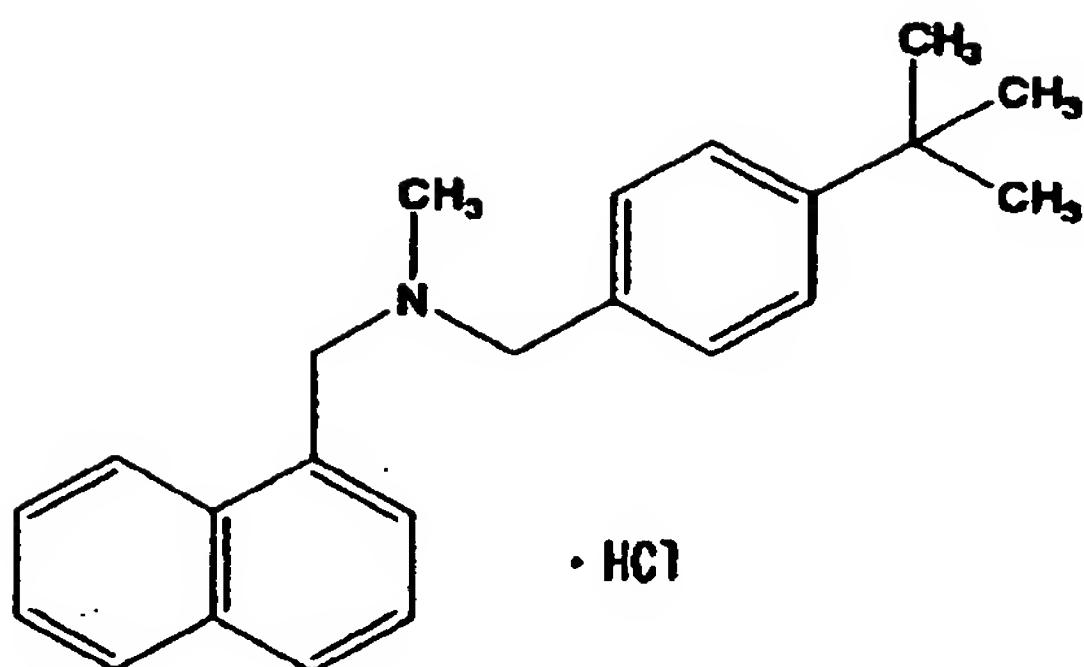
【化2】

10

20

30

40



10

【0011】

アテナフィンは、特に白 菌属、小胞子菌属、表皮菌属等の皮膚糸状菌や马拉セチア属に對して強い抗菌力を發揮することを特徴とする。アテナフィンは、我が国でも現在医薬用として最も通用されている抗真菌剤であり、市場において容易に入手可能である。

塩酸アテナフィンは、白 菌属のトリコフィトン・メンタクロフィテスに対して、MIC 0.006~0.025μg/mlを示し、トリコフィトン・ルブルムに対して、0.0015~0.025μg/mlを示す（前田鉄也他、薬学雑誌、111、126-137（1991）、横尾守他、西日本皮膚科、53、144-151（1991）を参照されたい）。塩酸アテナフィンは、白 菌属に対して、きわめて強い抗真菌作用を示すが、カンジダ属に対しては有効ではない。

塩酸アテナフィンの作用機序は、エルゴステロールの合成阻害であるが、その作用部位はイミダゾール系薬剤と異なり、スクワレンのエポキシ化反応阻害に基づいており、その作用は殺菌的である。

塩酸アテナフィンの毒性等は以下の通りである。LD₅₀ (mg/kg) ICRマウス雄
雌：経皮>800、皮下>200、静注>140、経口>5000、Wistarラット
：経皮>雄雌1000、皮下>雄雌150、静注>雄100、雌100、経口>雄雌4000、Beagle犬：経皮>100、経口>5000、生殖・発生毒性、抗原性、変異原性は認められず、局所刺激性は、ウサギ背部皮膚及び眼粘膜で、クリーム及び液の刺激性は弱く、苛酷条件下の劣化品でも刺激性の増強は認められなかった（薬業時報社発行、医療薬日本医薬品集1997年10月版1262頁より）。

本発明の抗真菌剤におけるアテナフィンの有効配合量は、0.1~2質量%であり、好ましくは0.1~1質量%であり、更に好ましくは0.3~1質量%である。

また、アモロルフィンとアテナフィンとの質量比は、100:1~1:10であり、好ましくは20:1~1:5、更に好ましくは5:1~1:5である。

【0012】

アリルアミン系抗真菌剤のテルビナフィンは、本明細書において、その塩も含む概念であり、特に塩酸塩が好ましい。

塩酸テルビナフィン ((E)-N-(8,6-ジメチル-2-ヘプテン-4-イニル)-N-メチル-1-ナフタレンメチルアミンハイドロクロライド (C₂₁H₂₅N·HCl)、分子量327.90) の構造式を以下に示す。

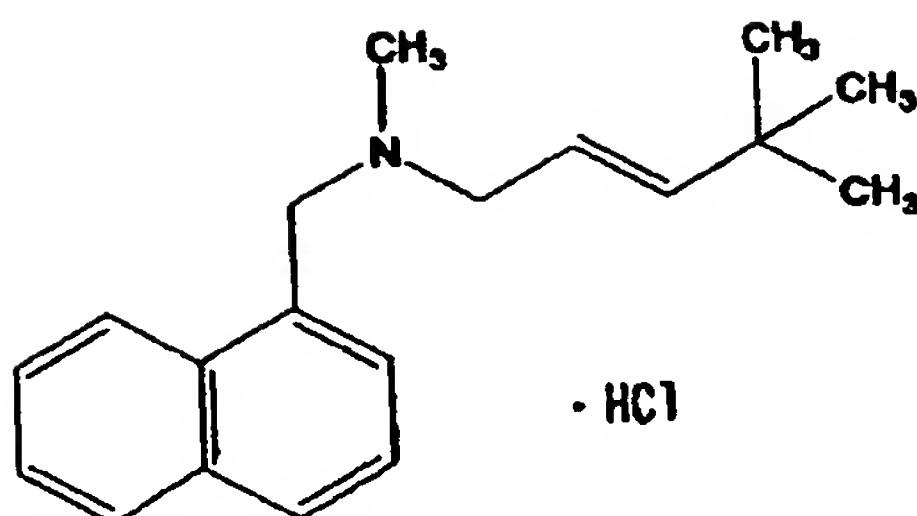
【0013】

【化8】

20

30

40



10

[00143]

【0014】テルビナフィンは、特に白 菌属、小胞子菌属、表皮菌属等の皮膚糸状菌やマラセチア属に対して強い抗菌力を発揮することを特徴とする。また、カンジダ属についても抗真菌活性が確認されている。テルビナフィンは、我が国でも現在医薬用として最も通用されている。

る抗真菌剤であり、市場において容易に入手可能である。塩酸テルビナフィンは、白 菌属のトリコフィトン・メンタクロフィテス及びトリコフィトン・ルアルムに対して、MIC 0.001~0.01 μg/mLを示す。また、トリコフィトン・メンタクロフィテス発芽分生子に対し低濃度で明らかな殺真菌作用を示す (S. chuster, I.ら、: "Preclinical characteristics of allylamines."; in Berg, D.ら、eds. "Stereochemical and Agrochemical Aspects of Biosynthesis Inhibitors: Pharmaceutical and Agricultural Aspects." Pbl.: E. I. du Pont de Nemours and Company, Inc., Horwood Ltd., Chichester (UK) PP. 449-470, 1988. 及び平谷民雄ほか: 日本医真菌学会雑誌 32(4), 828, 1991 を参照されたい)。また、塩酸テルビナフィンは、カンジダ・アルビカансに対して、0.098 μg/mL以上の濃度で酵母形から菌糸形への変換を阻止し、1 μg/mL以上の濃度では酵母形増殖に対し静真菌作用を示す (Schaude, M.ら、: Mykose n. 30(6), 281, 1987 及び平谷民雄ほか: 日本医真菌学会雑誌 33(1), 1992 を参照されたい)。

9、1992を参照されたい)。塩酸テルビナフィンの作用機序は、真菌細胞内のスクアレンエポキシダーゼの選択的阻害であり、スクアレンの蓄積並びにエルゴステロール含量の低下をもたらし抗真菌作用を示す。皮膚糸状菌に対しては、低濃度で細胞膜構造を破壊し、殺真菌的に作用する。また、カンジダ・アルビカヌスに対しては、低濃度から部分的発育阻止効果を示し、高濃度では直接的細胞膜障害作用により抗真菌活性をあらわす。

直接的細胞膜障害作用により抗真菌活性をもつ。マウス：静注
塩酸テルビナフィンの毒性等は以下の通りである。LD₅₀ (mg/kg) マウス：静注
= 雄 410、雌 377、経口 = 雄 3570、> 雌 4000、皮下 > 雄 雌 2000、ラット
：静注 = 雄 220 雌 206、経口 > 雄 雌 4000、皮下・経皮 > 雄 雌 2000、ウサギ
：静注 = 雄 220 雌 206、経口 > 雄 雌 4000、皮下・経皮 > 雄 雌 2000、ウサギに大量投与で母獸の体重増加
雄 雌：経皮 > 1500、生殖試験において、ラット、ウサギに大量投与で母獸の体重増加
抑制がみられたが、生殖及び胎児発育には影響は見られず、抗原性は、認められず、局所
刺激性は、ウサギ背部皮膚あるいは眼粘膜で、いずれの試験でも弱い刺激性あるいは軽度
の累積刺激性が認められた（薬業時報社発行、医療薬日本医薬品集 1997年10月版 9
59-960頁より）。

59-960頁より)。テルピナフィンの有効配合量は、0.1~2質量%であり、好みしくは0.1~1質量%

アモルフィンとテルビナフィンとの質量比は、100:1~1:10であり、好みしくは20:1~1:5、更に好みしくは5:1~1:5である。

[0 0 1 5]

【0016】本発明の外用抗真菌剤は、通常用いられる方法（例えば14改正日本薬局方に規定する方法（医薬品各条の製法、製剤総則）等）に従って調製することができます。その剤形としては、軟膏剤、クリーム剤（乳剤性軟膏剤）、ケル剤、液剤、ローション剤、エアソール剤

0

30

40

50

等の各種外用製剤に調製することができる。

軟膏剤は、適当な度の全質均等な半固形状に製した、皮膚に塗布する外用剤であり、油脂性軟膏、乳剤性軟膏、水溶性軟膏を含む。特に、乳剤性軟膏のクリーム剤が好ましく、クリーム剤は、親水軟膏などの水中油型の乳剤性基剤、吸水軟膏などの油中水型の乳剤性基材、親水ワセリンなど水を含まない乳剤基剤を用いたものである。また、ゲル剤は、水に不溶性の薬物の抱水化合物を水性液に懸濁したものである。液剤は、液状の外用製剤をいい、本発明の外用抗真菌剤、水虫治療薬に適した製剤を全て含み、具体的には、ローション剤、懸濁剤・乳剤、リニメント剤等を含む。ローション剤は、医薬品を水性の液中に溶解又は微細均等に分散して製した、皮膚に塗布する液状の外用剤である。また、エアソール剤は、医薬品の溶液、懸濁液等を容器に充填した液化ガス又は圧縮ガスの圧力により、用時噴出して用いるように製したものであり、霧状、粉末状、泡沫状、ペースト状等の噴出形態を取ることができる。10

これらの剤形で本発明の外用抗真菌剤、水虫治療薬を調製する場合、各剤形におけるアモロルフィン、ブテナフィン及びテルビナフィンの配合量は、前述の有効配合量が好ましい。

また、各剤形におけるアモロルフィンとブテナフィン又はテルビナフィンとの質量比は、前述の質量比が好ましい。

【0016】

本発明の外用抗真菌剤、水虫治療薬には、通常外用剤に配合する成分等を本発明の効果を損なわない範囲で加えることができ、また前記剤形を調製する賦形剤や可溶化剤等を使用できる。例えば、抗ヒスタミン剤（例えば、ジフェンヒドラミン、塩酸ジフェンヒドラミン、塩酸イソチベンジル、マレイン酸クロルフェニラミン等）、抗炎症剤（例えば、グリチルリチン酸及び塩類、グリチルリチン酸ジカリウム、グリチルレチン酸、アラントイン等）、殺菌剤（例えばイソプロピルメチルフェノール、塩化ベンゼトニウム、塩化デカリニウム、ヒノキチオール等）、鎮剤（例えば、クロタミトン等）、清涼剤（例えば、カンフル、メントール、ハッカ油等）、局所麻酔剤（例えば塩酸ジブカイン、リドカイン、塩酸リドカイン、アミノ安息香酸エチル等）、抗酸化剤（例えば、ジアチルヒドロキシトルエン、ビロ亞硫酸ナトリウム、没食子酸プロピル、アスコルビン酸等）、角質溶解剤（例えば、尿素、サリチル酸等）、ゲル剤（例えば、カルボキシビニルポリマー、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート等）、金属封鎖剤（エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム（EDTA-2Na）等）、PH調節剤（例えば、乳酸ナトリウム、乳酸、トリエタノールアミン、ジイソプロパノールアミン、クエン酸、クエン酸ナトリウム、水酸化ナトリウム等）、油成分（例えば、流動パラフィン、ステアリルアルコール、ステアリン酸、中鎖脂肪酸トリケリセリド、ワセリン、ケル化炭化水素、動植物油等）、多価アルコール類（例えば、グリセリン、ブロビレングリコール、マクロゴール、1,3-ブチレングリコール、グリセリンモノステアレート、高級アルコール等）、乳化剤（例えば、グリセリン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、ソルビタンモノステアレート、スパン（Span）類、ステアリン酸ポリオキシル、ポリソルベート類（ツイーン類）、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、ラウリル硫酸ナトリウム、ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート等）、保存剤（例えば、パラオキシ安息香酸塩類、安息香酸類塩、塩化ベンザルコニウム、ソルビン酸等）、溶剤（エチルアルコール、変性99V/V%エチルアルコール、イソプロパノール等）等、懸濁化剤（例えば、アラビアゴム、アルキン酸ナトリウム、カルメロースナトリウム、メチルセルロース、ペントナイト等）、その他基剤（例えば、ラノリン、パラフィン、ろう、樹脂、プラスチック、グリコール類、水等）、エアソールの噴射剤（例えば、フロンや代替フロン（塩素を含まないフッ化炭化水素類のHFC-134a、HFC-227等）、ジメチルエーテル（DME）が挙げられる。203040

【0017】

【実施例】50

以下、実施例及び試験例を挙げて、本発明を更に詳細に説明する。

実施例1

以下の処方により各成分を混合し、液剤を得た。

| <u>成分</u> | <u>配合量(%)</u> | |
|----------------|---------------|----|
| 塩酸アモロルフィン | 0.3 | |
| 塩酸アテナフィン | 0.4 | |
| クロタミトン | 5.0 | |
| 3-ブチレングリコール | 14.5 | |
| ヒドロキシプロピルセルロース | 1.0 | |
| 精製水 | 10.0 | 10 |
| エチルアルコール | 全100mL | |

【0018】

実施例2

以下の処方により各成分を混合し、液剤を得た。

| <u>成分</u> | <u>配合量(%)</u> | |
|------------------------|---------------|----|
| 塩酸アモロルフィン | 0.2 | |
| 塩酸アテナフィン | 0.5 | |
| クロタミトン | 5.0 | |
| 1,3-ブチレングリコール | 24.5 | |
| ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート | 2.5 | 20 |
| 変性99V/V%エチルアルコール | 全100mL | |

【0019】

実施例3

以下の処方により各成分を混合し、液剤を得た。

| <u>成分</u> | <u>配合量(%)</u> | |
|-------------------|---------------|----|
| 塩酸アモロルフィン | 0.35 | |
| 塩酸アテナフィン | 0.35 | |
| クロタミトン | 5.0 | |
| ジフェンヒドラミン | 0.25 | |
| リドカイン | 1.0 | 30 |
| 1,3-ブチレングリコール | 20.0 | |
| ヒドロキシプロピルメチルセルロース | 0.5 | |
| 精製水 | 7.0 | |
| エチルアルコール | 全100mL | |

【0020】

実施例4

以下の処方により各成分を混合し、クリーム剤を得た。

| <u>成分</u> | <u>配合量(%)</u> | |
|------------------------|---------------|----|
| 塩酸アモロルフィン | 0.3% | |
| 塩酸テルビナフィン | 0.4% | 40 |
| リドカイン | 2.0% | |
| ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート | 3.0% | |
| ソルビタンモノステアレート | 1.0% | |
| 1,3-ブチレングリコール | 10.0% | |
| 中鎖脂肪酸トリケリセリド | 10.0% | |
| ステアリルアルコール | 5.0% | |
| グリセリンモノステアレート | 2.5% | |
| EDTA-2Na | 0.1% | |
| 精製水 | 全100% | |

【0021】

実施例5

以下の処方により各成分を混合し、ケルクリーム剤を得た。

| <u>成分</u> | <u>配合量(%)</u> |
|------------------------|---------------|
| 塩酸アモロルフィン | 0.2% |
| 塩酸テルビナフィン | 0.5% |
| リドカイン | 2.0% |
| ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート | 1.0% |
| アロセレンケリコール | 10.0% |
| 中鎖脂肪酸トリグリセリド | 5.0% |
| ステアリルアルコール | 1.0% |
| カルボキシビニルポリマー | 1.0% |
| ジイソアロハノールアミン | 1.0% |
| EDTA-2Na | 0.1% |
| 精製水 | 全100% |

10

【0022】

実施例6

以下の処方により各成分を混合し、エアゾール剤を得た。

| <u>成分</u> | <u>配合量(%)</u> |
|--------------------|---------------|
| 原液： 塩酸アモロルフィン | 0.35% |
| 塩酸テルビナフィン | 0.35% |
| グリチルリチン酸ジカリウム | 0.25% |
| エタノール | 85.0% |
| 精製水 | 50mL |
| 噴射剤： DME（ジメチルエーテル） | 50mL |

20

【0023】

試験例1

30

(検体)

検体1：トルナフテート

検体2：塩酸ブテナフィン

検体3：塩酸テルビナフィン

検体4：ラノコナゾール

検体5：シクロピロクス・オラミン

質量比1：1の塩酸アモロルフィンと各検体（以下、薬剤と称す）をジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解し、DMSOで2倍希釈系列を作成した。抗菌力の測定の際、薬剤と培地とを1：99の割合で混合した。

【0024】

40

(試験方法)

感受性測定用培地として、サブロー寒天培地（栄研）を用いた。薬剤を含むサブロー寒天培地上にカンジダ・アルビカンスは 10^6 胞子/mLに、白菌は約 10^6 分生子/mLに接種、カンジダ・アルビカンスは2日間、白菌（トリコフィトン・メンタグロ）は7日間培養した。抗菌力は培養終了時に菌の発育阻止濃度（MIC：最小発育阻止濃度、 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）からFICインデックス（Fractional Inhibitory Concentration index）を算出した。

算出式： FICインデックス = $a/a_0 + b/b_0$

a：塩酸アモロルフィン、検体併用時の塩酸アモロルフィンのMIC

50

a_0 : 塩酸アモロルフィン単独でのMIC

b : 塩酸アモロルフィン、検体併用時の検体のMIC

b_0 : 検体単独でのMIC

以下の基準(FICインデックス)により併用効果の有無を判定した。

>2 : 抗作用

2以下～1より大きい : 相加作用

1以下 : 相乗効果

【0025】

(結果)

【0026】

【表1】

塩酸アモロルフィンと各薬剤併用時のFICインデックス

| 薬剤 | トリコifton・メンタグロフィン | トリコifton・ルブルム | カンジダ・アルビカンス |
|--------------|-------------------|---------------|-------------|
| トルナフテート | 1.25 | 0.35 | 0.38 |
| 塩酸ブテナフィン | 0.49 | 0.38 | 0.38 |
| 塩酸テルビナフィン | 0.52 | 0.75 | 0.27 |
| ラノコナゾール | 1.00 | 1.25 | 0.53 |
| シクロピロクス・オラミン | 1.0 | 1.0 | 0.38 |

10

20

30

【0027】

表1から明らかのように、塩酸アモロルフィンと塩酸ブテナフィン又は塩酸テルビナフィンとを質量比1:1で併用した場合、前記3菌種すべてに対してFICインデックスは1より小さくなり、顯著な相乗効果が認められた。

なお、トルナフテートは、チオカルバミン酸系、ラノコナゾールはイミダゾール系、シクロピロクス・オラミンは、ヒリドン系の抗真菌剤である。

【0028】

試験例2

(検体)

検体1 : 塩酸ブテナフィン

検体2 : 塩酸テルビナフィン

(1) 質量比100:1～1:100の塩酸アモロルフィンと各検体(以下、薬剤とする)をジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、DMSOで2倍希釈系列を作成した。抗菌力を測定の際、薬剤と培地とを1:99の割合で混合した。

(2) 更に、質量比1:8～8:1の塩酸アモロルフィンと各検体(以下、薬剤とする)をジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解し、DMSOで2倍希釈系列を作成した。抗菌力を測定の際、薬剤と培地とを1:99の割合で混合した。

【0029】

(試験方法)

感受性測定用培地として、サブロー寒天培地(栄研)を用いた。薬剤を含むサブロー寒天培地上にカンジダ・アルビカンスは 10^6 胞子/mlに、前記2種類の白菌は約 10^6

40

50

分生子/mLに調製した菌液を調製し、その5mLをミクロフランター（佐久間製作所製）を用い上記培地上に接種、カンジダ・アルビカヌスは2日間、白 菌は7日間培養した。抗菌力は培養終了時に菌の発育が認められない最小の薬剤濃度（MIC：最小発育阻止濃度、 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）からFICインデックスを算出した。

【0030】

(結果)

前記(1)において、塩酸アモロルフィンと塩酸プロテナフィン又は塩酸テルビナフィンとの質量比が、例えば、100:1~1:10の範囲で、FICインデックス約0.5~0.9であり、特に優れた相乗効果が確認された。

また、前記(2)の結果を、以下の表に示す。

【0031】

【表2】

最小発育阻止濃度(MIC) $\mu\text{g}/\text{mL}$

| | A | B | A+B (1:3) | A+B (1:2) | A+B (1:1) | A+B (2:1) | A+B (3:1) |
|---------------------|-------|-------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| トリコフィトン・ メントロフィン | 0.031 | 0.016 | 0.011 | 0.011 | 0.011 | 0.016 | 0.016 |
| トリコフィトン・ ルブロム | 0.016 | 0.004 | 0.002 | 0.0028 | 0.004 | 0.0057 | 0.008 |
| カンジダ・ アルビカヌス | 1.0 | >8.0 | 1.4 | 1.0 | 0.71 | 0.71 | 0.71 |

10

20

30

A : 塩酸アモロルフィン

B : 塩酸プロテナフィン

() : 各薬剤の質量比

各菌種とも2株を供試、幾何平均MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) で表示

【0032】

【表3】

FICインデックス

| | A+B (1:3) | A+B (1:2) | A+B (1:1) | A+B (2:1) | A+B (3:1) |
|---------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| トリコフィン・ メンタグロフィン | 0.60 | 0.58 | 0.54 | 0.68 | 0.64 |
| トリコフィン・ ルブルム | 0.41 | 0.53 | 0.63 | 0.71 | 0.88 |
| カンジダ・ アルビカヌス | 0.42 | 0.37 | 0.38 | 0.49 | 0.54 |

10

20

30

40

A : 塩酸アモロルフィン

B : 塩酸ブテナフィン

() : 各薬剤の質量比

カンジダ・アルビカヌスについてのFICインデックスは、塩酸ブテナフィンのMICを

16.0 μg/mLとして算出

【0033】

【表4】

最小発育阻止濃度(MIC) μg/mL

| | A | T | A+T (1:3) | A+T (1:2) | A+T (1:1) | A+T (2:1) | A+T (3:1) |
|---------------------|-------|-------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| トリコフィン・ メンタグロフィン | 0.031 | 0.011 | 0.008 | 0.008 | 0.008 | 0.008 | 0.016 |
| トリコフィン・ ルブルム | 0.016 | 0.004 | 0.004 | 0.004 | 0.004 | 0.004 | 0.008 |
| カンジダ・ アルビカヌス | 1.0 | >8.0 | 1.0 | 0.71 | 0.71 | 0.5 | 0.5 |

A : 塩酸アモロルフィン

T : 塩酸テルビナフィン

() : 各薬剤の質量比

各菌種とも2株を供試、幾何平均MIC(μg/mL)で表示

【0034】

【表5】

FICインデックス

| | A+T (1:3) | A+T (1:2) | A+T (1:1) | A+T (2:1) | A+T (3:1) |
|---------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| トリコフィン・ メンタグロフィン | 0.61 | 0.57 | 0.49 | 0.41 | 0.75 |
| トリコフィン・ ルブーム | 0.81 | 0.75 | 0.63 | 0.50 | 0.88 |
| カンジダ・ アルビカヌス | 0.32 | 0.27 | 0.38 | 0.34 | 0.38 |

10

A : 塩酸アモロルフィン

T : 塩酸テルビナフィン

() : 各薬剤の質量比

20

カンジダ・アルビカヌスについてのFICインデックスは、塩酸テルビナフィンのMICを16.0μg/mLとして算出

【0085】

表8及び表5から明らかなように、塩酸アモロルフィンと塩酸アテナフィンまたは塩酸テルビナフィンを、例えば、質量比1:3から3:1の割合で併用した場合、前記3菌種すべてに対してFICインデックスは1より小さくなり、顕著な相乗効果が認められた。

ここで注目すべきは、白菌属だけでなく、カンジダ属においても、顕著な相乗効果が認められたことである。表2及び表4において、塩酸アテナフィン及び塩酸テルビナフィンを単独でカンジダ・アルビカヌスに適用した場合、いずれもMIC>8.0μg/mLであったにもかかわらず、塩酸アモロルフィンと併用すると、カンジダ・アルビカヌスに対する塩酸アモロルフィンのMIC1.0μg/mLよりも更に低いMICを示した。また、表8及び表5において、FICインデックスが0.32~0.54であり、非常に高い相乗効果が認められた。

30

【0086】

試験例3

(検体)

検体1 : 塩酸アテナフィン

検体2 : 塩酸テルビナフィン

質量比1:2の塩酸アモロルフィンと各検体(以下、薬剤とする)をポリエチレンクリコール400に最終濃度0.75%質量比となるように溶解し、混合した。塩酸アモロルフィン及び各薬剤を単独で、それぞれポリエチレンクリコール400に最終濃度0.75%質量比となるように溶解した。

40

【0087】

(試験方法)

〔供試動物〕

ハートレー(Hartley)系雄性モルモット(日本エスエルシー(株)、6週齢)を供試した。試験期間中はアイソレーター(ネガティブラック、日本クレア(株))の中で個別飼育し、固体飼料(Gスタンダード、日本農産工業(株))及び水を自由摂取させた。

〔接種菌液の調製〕

50

トリコフィトン・メンタグロフィテス TIMM 1189 株をサブロー・ケルコース寒天斜面培地上で 27℃、14 日間培養後、0.05% ツイーン (Tween) 80 を含む滅菌生理食塩水を加えて分生子を採取し、菌浮遊液をした。この液をセルストレイナー (ファルコン (FALCON) (株)) でろ過して大きな菌塊を除き、血球計算盤を用いて分生子数を計数後、0.05% ツイーン 80 含有滅菌生理食塩水にて 4×10⁷ 個/ml となるよう希釈し、接種菌液とした。

【0038】

【感染方法】

モルモット背部を剃毛した後、脊柱を中心とした左右 1 箇所ずつ、合計 2 箇所に直径 2 cm の円形の接種部位を設定し、ガムテープを貼り付けては剥がすという操作を 3 回繰り返した。これによって局所皮膚の抜毛を行なうと同時に皮膚角質層上部を剥離させた。更に残った毛は毛抜きにて完全に抜き取った。この抜毛部位に接種菌液を 0.1 ml ずつ塗布接種した。

10

【治療試験方法】

供試動物数は 1 群 5 匹とし、菌接種後 3 日目より上記薬剤溶液を 1 日 1 回 0.1 ml ずつ連日接種部位に塗布した。塗布期間は 5 日間とした。これらの中の治療群の他に無処置感染対照群を設けた。

【0039】

【培養試験による薬効の判定】

薬剤最終塗布後 5 日目に局所皮膚組織片の培養試験を行い、薬効判定を行った。培養試験は以下のように行った。モルモットをエーテル麻酔下で屠殺、接種部位の皮膚を全面摘出された。各実験群について合計 10 箇所の接種部位 (モルモット 5 匹 × 接種部位 2 箇所) の皮膚が得られた。この接種部位の皮膚を更に 10 個の皮膚小片に切り出し、各実験群について合計 100 個の皮膚小片を得た。各小片をシクロヘキシミド (cycloheximide) 50 μg/ml、クロラムフェニコール (chloramphenicol) 50 μg/ml 及びシソマイシン (sismycin) 50 μg/ml を含有するサブロー・ケルコース寒天平板上にのせ、27℃にて培養し、トリコフィトン・メンタグロフィテスのコロニーが発育したものと培養陽性小片とした。

20

(i) 培養陽性率

1 箇所の接種部位の皮膚から得られた 10 個の皮膚小片のうち、前記培養陽性小片を 1 個でも含む接種部位を培養陽性と判定し、各実験群の接種部位総数 10 のうち培養陽性部位数をもって培養陽性率を算出する。

30

(ii) 平均感染強度

接種部位の前記培養陽性小片数に基づいて次の通りスコア化し、感染強度とする。即ち、1 箇所の接種部位の皮膚から得られた 10 個の皮膚小片中、陽性小片の個数が 10、9、8、7、6、5、4、3、2、1、0 の場合をそれぞれ +10、+9、+8、+7、+6、+5、+4、+3、+2、+1、0 とした。各実験群について接種部位 10 箇所で試験を行ったので、それぞれの接種部位箇所のスコアを加算して 10 で除算し、平均感染強度を算出した。

40

【推計学的処理】

培養陽性率についてはフィッシャー (Fisher) の正確確率検定法により、感染強度についてはノンパラメトリックな Tukey の多重比較検定法によりそれぞれ有意水準 5 % で解析した。

【0040】

(結果)

図 1 に、前記 (i) 培養陽性率、図 2 に、前記 (ii) 平均感染強度の結果を示した。無処置感染対照群の陽性培養率は 100 %、平均感染強度は +10.0 と高く、真菌学的に感染の成立が確認された。

図 1 において、3 つの薬剤単独塗布群 (塩酸アモロルフィンのみ、塩酸ブテナフィンのみ、塩酸テルビナフィンのみ) の各薬剤溶液では、培養陽性率は全て 100 % であった。即

50

ち、これらの薬剤溶液を単独で使用した場合、接種部位10箇所すべてに菌が確認された。一方、2つの薬剤併用塗布群（塩酸アモロルフィンと塩酸ブテナフィンとを併用及び塩酸アモロルフィンと塩酸テルビナフィンとを併用）は、培養陽性率がそれぞれ40%と0%であった。

図2において、3つの薬剤単独塗布群では、平均感染強度が4~5であったのに対し、2つの薬剤併用塗布群では、平均感染強度がそれぞれ0.4、0.4であった。即ち、薬剤を併用すると、薬剤単独塗布群よりも有意に高い治療効果が認められ、特に、塩酸アモロルフィンと塩酸テルビナフィンとを併用した薬剤溶液では、驚くべきことにどの接種部位にも、どの皮膚小片にも菌が確認されず、顕著に高い治療効果が認められた。塩酸アモロルフィンと塩酸ブテナフィン又は塩酸テルビナフィンとを組み合わせた抗真菌剤は、in vivoにおいても顕著な相乗効果を有することが確認された。
10

【0041】

【発明の効果】

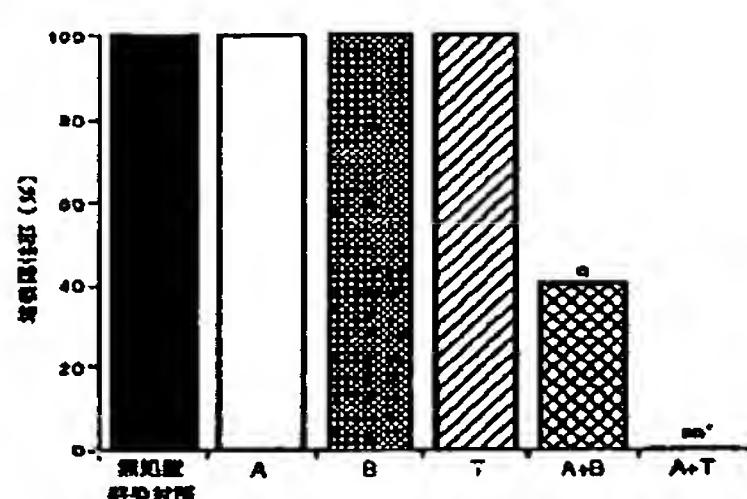
以上詳述の通り、本発明は、アモロルフィンとブテナフィン又はテルビナフィンとを併用することにより、併用による顕著な相乗効果を示し、低濃度で白菌属とカンジダ菌属両方に抗菌活性を発揮する優れた抗真菌剤、水虫治療薬を提供することができます。

【図面の簡単な説明】

【図1】モルモット体部白モデルの培養試験による培養陽性率のグラフである。

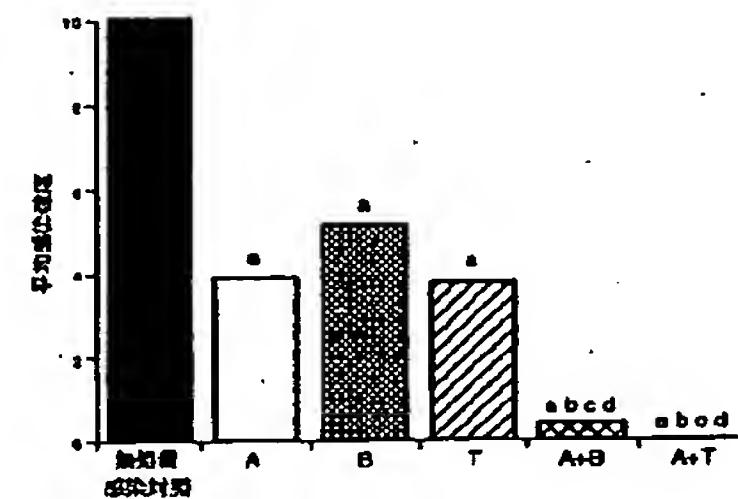
【図2】モルモット体部白モデルの培養試験による平均感染強度のグラフである。

【図1】



モルモット体部白モデルの培養試験による病原性化効果：培養陽性率 (n=10)
A : 塩酸アモロルフィン、B : 塩酸ブテナフィン、T : 塩酸テルビナフィン
a : 無処置感染対照群に対する有意差あり
a' : A + B 塗布群に対する有意差あり

【図2】



モルモット体部白モデルの培養試験による菌陰性化効果：平均感染強度 (n=10)
A : 塩酸アモロルフィン、B : 塩酸ブテナフィン、T : 塩酸テルビナフィン
a : 無処置感染対照群に対する有意差あり
b : A 塗布群に対する有意差あり
c : B 塗布群に対する有意差あり
d : T 塗布群に対する有意差あり

フロントページの続き

(74)代理人 100084009
弁理士 小川 信夫
(74)代理人 100082821
弁理士 村社 厚夫
(74)代理人 100086771
弁理士 西島 孝容
(74)代理人 100084668
弁理士 箱田 萬
(72)発明者 石塚 誠治
東京都品川区東大井6丁目8番5号 佐藤製薬株式会社研究開発センター内
(72)発明者 多田 知広
東京都品川区東大井6丁目8番5号 佐藤製薬株式会社研究開発センター内
(72)発明者 片山 雅英
東京都品川区東大井6丁目8番5号 佐藤製薬株式会社研究開発センター内
(72)発明者 柳原 智
東京都品川区東大井6丁目8番5号 佐藤製薬株式会社研究開発センター内
(72)発明者 清水 俊人
東京都品川区東大井6丁目8番5号 佐藤製薬株式会社研究開発センター内

F ターム(参考) 4C086 AA01 AA02 CB23 MA02 MA04 MA10 MA63 NA05 ZA90 ZB35
4C206 AA01 AA02 FA07 FA08 MA02 MA04 MA83 NA05 ZA90 ZB35
4H011 AA02 BA01 BA06 BB04 BB10 BC03 BC04 BC06 BC18 BC19
DA13 DA17 DA21 DD07 DF06 DH02 DH03 DH10